乳酸脱氢酶(LDH)检测试剂盒(LD-L 比色法)

产品简介:

乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase，LDH 或 LD)属于氧化还原酶，能够催化氢氧原子或电子从一中底物转移到另一种底物上乳酸脱氢酶是糖酵解和糖异生的一个极其重要的酶，含有锌离子，广泛分布于人和动物组织、植物和微生物中，能可逆的催化乳酸(L)和丙酮酸(P)之间的氧化还原反应。其反应公式：乳酸+NAD^+→丙酮酸+NADH+H^+。其中：L→P 为正向反应；P→L 为逆向反应。

乳酸脱氢酶(LDH)检测试剂盒(LD-L 比色法)是利用乳酸脱氢酶催化上述正反应，即 L-乳酸+NAD^+→丙酮酸+NADH+H^+，在上述反应过程中乳酸氧化成丙酮酸，同时NAD^+氧化成 NADH，引起 340nm 处吸光度的升高，其升高速率与样品中 LDH 活性呈正比关系，通过分光光度计或自动分析仪检测 340nm 处吸光度升高速率，通过计算获得乳酸脱氢酶的活性。该 LD-L 法的优点是：1、乳酸盐和 NAD^+底物溶液的稳定性比 LD-P 法中的丙酮酸和 NADH 底物溶液好；2、线性速率反应时间范围较宽；3、重复性比 LD-P 法和二硝基苯肼法好；4、准确性比二硝基苯肼法好；5、适用于自动分析仪。该试剂盒仅用于科研领域，不宜用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

编号 / 名称	GCTE0153 100T	Storage
试剂(A): NAD	1 支	4℃ 避光
试剂(B): LD-L Assay buffer	100ml	4℃ 避光
试剂(C): LDH 保护剂	1 支	4℃ 避光
使用说明书	1 份	

自备材料:

1、 离心管或小试管、水浴锅、量筒、精密天平

2、 1ml 石英比色杯、紫外分光光度计或自动分析仪

3、 去离子水、生理盐水

操作步骤(仅供参考):

1、 准备样品:

①血浆、血清样品：血浆、血清按照常规方法制备，可以直接用于本试剂盒的测定，室温保存 3 天，用于 LDH 的检测。

②细胞或组织样品：取恰当细胞或组织进行匀浆，低速离心取上清，室温保存 3 天，用于 LDH 的检测。

③长期保存样品：如果提取后的样品无法及时检测，需要放置时间较长，按下列方法操作：取 LDH 保护剂 1 支，加入 1ml 的去离子水，配制成 LDH 保护工作液，-20℃避光保存；按待测样品(如血清)：LDH 保护工作液=9:1 的比例混合，4℃避光保存。

④(选做)样品准备完毕后可以用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白浓度，以便于后续计算单位蛋白重量组织或细胞内的 LDH 含量。

2、配制 LDH 检测工作液：用精密天平称取 42mg NAD，加入 10ml LD-L Assay buffer 混合溶解，即为 LDH 检测工作液，即配即用。

3、分光光度计测定：按照下表设置测定管，溶液应按照顺序依次加入，并注意避免产生气泡。如果样品中的 LDH 浓度过高，可以减少样品用量或适当稀释后再进行测定，样品的检测最好能设置平行管。

加入物(ml)	测定管
待测样品(血清、血浆、体液等)	0.05
LDH 检测工作液(37℃提前预热)	1
混匀，37℃孵育 30s。	

1ml 石英比色杯光径 1cm，立即以紫外分光光度计 340nm 处读取测定管吸光度，记录为 $A_{测定1}$。t min 后再次读取吸光度，记录为 $A_{测定2}$。注意：由于酶促反应时间较短，建议加样时间越短越好，其反应基本在 1~3min 内，其后反应趋于平缓，由于检测仪器、操作手法以及样品酶活性高低等条件的不同，参考值范围会有波动。

4、自动分析仪测定：如果样品中的浓度过高，可以减少样品用量或适当稀释后再进行测定，样品的检测最好能设置平行管。根据实验室的自动分析仪性能，设置参数，下列参数仅供参考，记录待测样品管吸光度的升高速率(ΔA/min)。

温度	37℃
波长	340nm
延迟时间	90s
检测时间	180s
待测样品	15μl
LDH 检测工作液	300μl

计算：

手工比色计算公式：$LDH(U/L)=\Delta A/min\times(10^6/6220)\times(1.05/0.05)=\Delta A/min\times3376$

式中：$\Delta A/min=(A_{测定2}-A_{测定1})/t$

t=酶促反应的时间(min)

6220=NADH 的吸光度

2.1=反应液的总体积(ml)

0.1=待测样品体积(ml)

自动分析仪计算公式：LDH(U/L)=Δ*A*/min×(10^6/6220)×(315/15)=Δ*A*/min×3376

式中：Δ*A*/min=测定的 340nm 吸光度的升高速率

6220=NADH 的吸光度

315=反应液的总体积(μl)

15=待测样品体积(μl)

注意：如果待测样品加入 LDH 保护工作液，其结果应除以 0.9。

参考范围：

成年健康人	109～245U/L

注意事项：

1、 处理后的样品应及时检测，否则 LD_4 和 LD_5 易失效。

2、 血清或肝素抗凝血浆检测效果较好，草酸类、EDTA 抗凝剂对 LDH 活性有抑制作用。

3、 避免使用溶血样品。

4、 酶促反应的时间一般为 1~3min。时间延长，反应速率下降。

5、 本反应需在 340nm 波长条件下测定，需要紫外分光光度计或全波长酶标仪、石英比色皿或 UV 酶标板进行测定。

6、 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

7、 试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。

有效期：12 个月有效。低温运输，4℃保存。

相关产品：

产品编号	产品名称
GCCA0005	氨苄青霉素溶液(Ampicillin,50mg/ml)
GCDH0006	苏木素伊红(HE)染色液(醇溶)
GCDP0013	GUS 染色液(即用型)
GCNR0003	Lezol(总 RNA 提取试剂)
GCPE0018	SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒
GCTC1167	尿素(Urea)检测试剂盒(脲酶波氏比色法)